

液相色谱-串联质谱法检测对虾中 T-2 毒素的不确定度评定

施琦¹, 刘阳¹, 王雅玲^{2*}, 孔冬伟¹, 杨嘉丽¹, 雷大明¹, 孙力军^{2*}, 毕思远^{3,4}

(1. 广东省湛江市质量计量监督检测所, 国家海产品质量监督检验中心(湛江), 湛江 524096; 2. 广东海洋大学食品科技学院, 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东普通高等学校水产品深加工重点实验室, 湛江 524088; 3. 深圳市通量检测科技有限公司, 深圳 518012; 4. 深圳市易瑞生物技术有限公司, 深圳 518012)

摘要: **目的** 评定液相色谱-串联质谱检测对虾中 T-2 毒素的不确定度。**方法** 样品经乙酸乙酯提取, 无水硫酸钠脱水, 提取上清液氮气吹干后用 1 mL 0.1% 甲酸的甲醇:水溶液(3:7, V:V)定容, 正己烷除脂。基质匹配法定量。液相采用甲醇和 0.1% 甲酸酸化的 5 mmol/L 乙酸铵溶液梯度洗脱, 质谱采用电喷雾离子化方式下正离子的选择离子监测模式对 T-2 毒素的定量离子和定性离子进行监测。通过分析并计算检测过程中各不确定度分量得到合成标准不确定度。**结果** 本方法检测 T-2 毒素的合成标准不确定度为 0.739 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 取置信概率 95% 的扩展不确定度为 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。所以, 试样中 T-2 毒素的测量结果为: $X=(12.7\pm 1.5) \mu\text{g}/\text{kg}$, $k=2$ 。**结论** 此检测方法使外标法的定量结果更为真实有效, 方法不确定度的评定亦可为采用空白基质匹配法的现行相关检测方法的不确定度评估提供参考。

关键词: T-2 毒素; 液相色谱质谱联用法; 对虾; 不确定度

Uncertainty evaluation of T-2 toxin determination in prawns by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

SHI Qi¹, LIU Yang¹, WANG Ya-Ling^{2*}, KONG Dong-Wei¹, YANG Jia-Li¹, LEI Da-Ming¹,
SUN Li-Jun^{2*}, BI Si-Yuan^{3,4}

(1. Zhanjiang Institute of Supervision & Test on Quality & Measure, National Marine Products Quality Supervision & Inspection Center, Zhanjiang 524096, China; 2. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Key Laboratory

基金项目: 国家自然科学基金项目(31371777, 31171634)、广东省科技计划项目(2014B020205006)、广东省质监局科技项目(2015zz02)、广东省海洋与渔业局项目(粤财农[2015]115号)、深圳市食品安全快速检测技术工程中心项目(GCZX20140509163151273)、深圳市宝安区 2015 年科技计划项目(20151246)、广东省联合培养研究生示范基地培育项目(粤教研函[2015]2号)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31371777, 31171634), Science and Technology Planning Project of Guangdong Province (2014B020205006), Science and Technology Project of Administration of Quality and Technology Supervision of Guangdong Province (2015zz02), Guangdong Oceanic & Fishery Administration Project (Guangdong Fiscal Government on Agriculture [2015] No. 115), Shenzhen Technology Research & Development Foundation Project (GCZX20140509163151273), Science and Technology Planning Project of Shenzhen Bao'an in 2015 (20151246) and Guangdong Combined Training of Postgraduates Demonstrative Base Project (Guangdong Teaching and Research Letter [2015] No. 2)

*通讯作者: 王雅玲, 教授, 硕士生导师, 主要研究方向为水产品质量与安全。E-mail: 65466768@qq.com;

孙力军, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为水产品质量与安全。E-mail: dfsun01@126.com

*Corresponding author: WANG Ya-Ling, Professor, College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, No.1, Haida Road, Mazhang District, Zhanjiang 524088, China. E-mail: 65466768@qq.com;

SUN Li-Jun, Professor, College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, No.1, Haida Road, Mazhang District, Zhanjiang 524088, China. E-mail: dfsun01@126.com

of Advanced Processing of Aquatic Products of Guangdong Higher Education Institution, Zhanjiang 524088, China; 3. Shenzhen Total-Test Technology Co., Ltd., Shenzhen 518012, China; 4. Shenzhen Bioeasy Biotechnology Co., Ltd., Shenzhen 518012, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the uncertainty of T-2 toxin determination in prawns by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Methods** Samples were extracted by ethyl acetate, dehydrated by sodium sulfate, concentrated upper layer by nitrogen, dissolved by 1 mL 0.1% formic acid in methyl alcohol:water (3:7, V:V), and degreased by hexane. The target compounds were quantified by matrix-matched calibration standard. The T-2 toxin was separated on a reversed phase using a gradient elution program of 0.1% formic acid methyl alcohol solution and 0.1% formic acid in 5 mmol/L ammonium acetate. LC-MS/MS with selected reactions monitoring (SRM) was used, and the T-2 toxin was identified based upon the intensities of fragments. Then the combined standard uncertainty was determined by analyzing and calculating various measurements of uncertainties. **Results** The relative combined standard uncertainty of this method was 0.739 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The expanded uncertainty was 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ when the fiducial probability was about 95%. So the measurement result of T-2 toxin in the sample was $(12.7 \pm 1.5) \mu\text{g}/\text{kg}$, $k=2$. **Conclusion** This detection method makes the results of external standard method more realistic and effective. The evaluation method of measurement uncertainty in this article can also provide a reference for the correlation detection method which quantified by matrix-matched calibration standard.

KEY WORDS: T-2 toxin; liquid chromatography-tandem mass spectrometry; prawn; uncertainty

1 引言

T-2 毒素是由镰孢菌产生的真菌毒素,具有三环骨架的单端孢霉烷的母体结构,属倍半萜烯类化合物。其化学名称为 4,15-二乙酰氧基-8-(异戊酰氧基)-12,13-环氧单端孢霉-9-烯-3-醇,分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_5$, 分子量为 466.22^[1]。它是单端孢霉烯族毒素中毒性最强的一种^[2-4], 被公认为自然界中不可避免的真菌毒素^[5]。南美白对虾中的 T-2 毒素的液质联用检测方法是近年来本团队建立的新的检测方法,为了确定该方法的有效性和可靠性,对其进行不确定度的评估十分必要。测量不确定度是表征合理地赋予被测量之值的分散性,与测量结果相联系的参数^[6]。它是度量结果可信度的重要指标^[7,8]。对方法进行不确定度评估可让分析人员在操作过程中密切注意产生不确定度主要来源的因素,有方向地尽可能减小不确定度,从而使结果更加真实有效^[9]。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

TSQ Quantum Access 三重四级杆液质联用仪(美国 Thermo Fisher 公司); XS205 分析天平,感量为 0.00001 g(瑞士梅特勒-托利多公司);电子天平,感量为 0.01 g(佛山市禅城区华天力电子天平厂);10 mL 容量瓶(A级);1 mL 可调移液器、100 μL 可调移液器、5 mL 分度吸量管(A级);10 mL 分度吸量管(A级)。

T-2 毒素标准品: Enzo, 纯度 98%, 购于美国

Sigma 公司, 出厂编号为 ALX-630-101-M001。

2.2 标准溶液的配制

称取 1.00 mg T-2 毒素标准品甲醇溶解,置于 10 mL 容量瓶中甲醇定容,得浓度为 0.1 mg/mL 的标准储备液。取 1 mL 储备液于 10 mL 容量瓶中甲醇定容,得浓度为 10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 T-2 毒素标准中间溶液。分别移取 0.0、0.04、0.20、0.40、0.80、2.00、4.00 mL 标准中间溶液于 7 个 10 mL 容量瓶,甲醇定容到刻度,得浓度为 0.00、0.04、0.20、0.40、0.80、2.00、4.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准使用液。

2.3 标准曲线绘制

移取 100 μL 各浓度标准使用液于 7 个空白样品中,然后按 2.4 方法(无需加甲醇)处理后上机测定。

2.4 样品处理

将对虾去头去壳,取肌肉部分绞碎并使其均质后称取 2.00 g,置于 50 mL 离心管中,用 10 mL 分度吸量管准确移取 10 mL 乙酸乙酯加入其中,然后移取 100 μL 甲醇加入待测样品中,振荡 10 min(2000 r/min),加入无水硫酸钠 5~8 g,振荡 5 min(2000 r/min),离心 10 min(4000 r/min)后用 5 mL 分度吸量管准确移取上清液 5 mL,40 $^{\circ}\text{C}$ 条件下氮气吹干后用 1 mL 含有 0.1% 甲酸的甲醇:水溶液(3:7, V:V)溶解,加入 1 mL 正己烷除脂,离心除去上层后过 0.22 μm 滤膜。

2.5 液相色谱质谱联用(LC-MS/MS)检测条件

色谱柱: C_{18} 柱;流动相: A: 甲醇 B: 5 mmol/L 乙酸铵溶液(含 0.1% 甲酸),梯度洗脱条件见表 1。

表1 液相色谱梯度洗脱条件
Table 1 Gradient elution condition of HPLC

时间(min)	A (%)	B (%)
0.00	20.0	80.0
3.00	90.0	10.0
5.00	90.0	10.0
5.10	20.0	80.0
8.00	20.0	80.0

质谱采用ESI+监测模式,喷雾电压为4500 V,鞘气压力为35 au,辅助气压为15 au,毛细管温度为270 °C,碰撞压为1.5 mTorr。选择离子扫描监测模式(SRM)的定性定量离子对为484.20/215.00, 484.20/305.00。

3 不确定度的分析与评定

3.1 建立数学模型

试样中T-2毒素的含量表示为:

$$X = \frac{c \times 1000}{m \times 1000} \times f_1 \times f_2 \times f_3$$

其中:

- X——试样中T-2毒素含量, μg/kg;
c——试样溶液中T-2毒素含量, ng;
m——样品称样量, g;
f₁——重复性影响因子;
f₂——定量标准溶液影响因子;
f₃——仪器校准影响因子。

合成标准不确定度为:

$$\frac{u(X)}{X} = \sqrt{u^2(f_1) + u^2(f_2) + u^2(f_3) + u^2(m) + u^2(c)}$$

3.2 不确定度分量来源分析

根据实验过程可知,本实验的不确定度来源主要有:标准溶液配制引入的不确定度;校准曲线拟合引入的不确定度;样品称量引入的不确定度;样品前处理过程中提取溶液体积引入的不确定度;方法重复性引入的不确定度和仪器定量校准引入的不确定度。

3.3 分量不确定度的评定

3.3.1 校准溶液配制过程引入的不确定度

(1)所购买T-2毒素标准物质引入的不确定度

根据标准物质证书提供的T-2毒素标准品的不确定度为0.2%(k=2),可知T-2毒素标准物质的相对标准不确定度为:

$$u_s = \frac{0.2\%}{2 \times 100\%} = 0.001$$

(2)标准物质称量引入的不确定度

称取T-2毒素的质量为0.00100 g,所使用的电子分

析天平的最大允差为±0.00001 g,按矩形分布考虑^[10],其产生的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(m_1) = \frac{0.00001}{\sqrt{3} \times 0.00100} = 5.77 \times 10^{-3}$$

(3)校准溶液配制过程中所使用玻璃量器引入的不确定度

标准溶液配制过程中使用玻璃量器所引入的不确定度主要来源为:量器校准引入的不确定度;使用溶液配制时温度与标准温度不一致引入的不确定度。

①量器校准引入的不确定度

标准溶液配制过程中,所用到的玻璃量器为8个A级10 mL容量瓶,根据常用玻璃量器检定规程^[11]可知,其最大允差为±0.020 mL,按其服从三角分布计算,可知它的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(V_1) = \frac{0.020}{\sqrt{6} \times 10} = 8.16 \times 10^{-4}$$

②温度变化产生的不确定度

实验室所使用的容量瓶均已在20 °C校准,标准溶液配制室实际温度为23 °C,按多数研究者引用的体涨系数法^[12-14],甲醇的体积膨胀系数为 $1.1 \times 10^{-3}/^{\circ}\text{C}$,假设其服从矩形分布,则标准溶液配制过程中使用容量瓶由温度变化引入的相对不确定度为:

$$u_{rel}(C_1) = \frac{10 \times (23 - 20) \times 1.1 \times 10^{-3}}{\sqrt{3} \times 10} = 1.91 \times 10^{-3}$$

由于A级10 mL容量瓶在校准溶液配制过程中共使用了8次,则校准溶液配制过程中所使用玻璃量器产生的合成不确定度为:

$$u^2(V_1) = 8 \times (8.16 \times 10^{-4})^2 + 8 \times (1.91 \times 10^{-3})^2 = 3.45 \times 10^{-5}$$

(4)校准溶液配制过程中所使用移液器引入的不确定度

校准溶液配制过程移液器的使用引入的不确定度的来源主要有两方面:一是移液器的校准;二是溶液由温度变化引入的不确定度。按三角分布计算,则 $k = \sqrt{6}$,校准溶液由移液器校准带来的不确定度结果见表2。

表2 移液器校准产生的不确定度
Table 2 Uncertainty caused by pipettors calibration

移取体积	使用次数	容量允差/%	相对标准不确定度
1.00 mL	7	±1.0	4.08×10^{-3}
0.80 mL	1	±1.0	4.08×10^{-3}
0.40 mL	1	±1.0	4.08×10^{-3}
0.20 mL	1	±2.0	8.16×10^{-3}
40.0 μL	1	±3.0	1.22×10^{-2}

校准溶液配制过程可调移液器的使用中由于温度与标准温度的差异引入的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(C_2) = \frac{(23-20) \times 1.1 \times 10^{-3}}{\sqrt{3}} = 1.91 \times 10^{-3}$$

所以, 校准溶液配制过程中由于移液器的使用所产生的合成不确定度为:

$$u^2(V_2) = 9 \times (4.08 \times 10^{-3})^2 + (8.16 \times 10^{-3})^2 + (1.22 \times 10^{-2})^2 + 11 \times (1.91 \times 10^{-3})^2 = 4.05 \times 10^{-4}$$

(5) 校准溶液配制过程的合成不确定度

综上所述, 校准溶液配制过程中引入的不确定度为:

$$u^2(P) = u_{rel}^2(s) + u_{rel}^2(m_1) + u^2(V_1) + u^2(V_2) = 4.74 \times 10^{-4}$$

3.3.2 样品称量过程引入的不确定度

称取试样质量为 2.00 g, 电子分析天平的最大允差为 ± 0.01 g, 按矩形分布 $k = \sqrt{3}$ 计算样品称量过程引入的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(m) = \frac{0.01}{\sqrt{3} \times 2.00} = 2.89 \times 10^{-3}$$

3.3.3 样品处理过程体积引入的不确定度

本实验方法的提取过程涉及到溶剂定量提取和定量浓缩, 所以样品处理过程引入不确定度的主要来源为: ①加入提取试剂体积时 10 mL 分度吸量管和 100 μ L 可调移液器的校准及操作温度差; ②移取待浓缩溶液体积时 5 mL 分度吸量管的校准及操作温度差; ③定容时 1 mL 可调移液器的校准及操作温度差。

(1) 加入提取试剂引入的不确定度

10 mL 分度吸量管的最大允差为 ± 0.05 mL, 按三角分布计算吸量管校准引入的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(V_3) = \frac{0.05}{\sqrt{6} \times 10} = 2.04 \times 10^{-3}$$

100 μ L 可调移液器的最大允差为 $\pm 3.0\%$, 由其引入的相对标准不确定度为:

$$u_{rel}(V_3') = \frac{0.03}{\sqrt{6}} = 1.22 \times 10^{-2}$$

乙酸乙酯的体积膨胀系数为 $1.38 \times 10^{-3}/^\circ\text{C}$, 实验温度为 23°C 条件下所产生的不确定度为:

$$u_{rel}(C_3) = \frac{(23-20) \times 1.38 \times 10^{-3}}{\sqrt{3}} \times 2 = 4.78 \times 10^{-3}$$

提取试剂加入体积引入的不确定度合成为:

$$u^2(V_3) = u_{rel}^2(V_3) + u_{rel}^2(V_3')^2 + u_{rel}^2(C_3) = 1.76 \times 10^{-4}$$

(2) 移取待浓缩溶液体积引入的不确定度

5 mL 分度吸量管的最大允差为 ± 0.025 mL, 参照 3.3.1 中(1)可知, 移取待浓缩溶液体积引入的不确定度合成为:

$$u^2(V_4) = u_{rel}^2(V_4) + u_{rel}^2(C_4) = \left(\frac{0.025}{\sqrt{6} \times 5}\right)^2 + (2.39 \times 10^{-3})^2 = 9.87 \times 10^{-6}$$

(3) 定容体积引入的不确定度

由表 2 可知, 1 mL 可调移液器量取液体体积为 1 mL

时, 由校准引入的相对标准不确定度为 4.08×10^{-3} , 定容溶剂为甲醇水溶液, 水所占比例大于甲醇, 而水的体积膨胀系数 $2.1 \times 10^{-4}/^\circ\text{C}$ 远小于甲醇的体积膨胀系数, 所以, 以水的体积膨胀系数近似计算由温度差引入的不确定度, 假设其服从矩形分布, 由定容体积引入的合成不确定度为:

$$u^2(V_5) = (4.08 \times 10^{-3})^2 + \left(\frac{3 \times 2.1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 = 1.68 \times 10^{-5}$$

(4) 样品前处理体积的合成不确定度

$$u^2(c) = u^2(V_3) + u^2(V_4) + u^2(V_5) = 2.03 \times 10^{-4}$$

3.3.4 实验重复性引入的不确定度

将样品独立重复测量 6 次, 得到样品中 T-2 毒素含量结果见表 3。

表 3 样品中 T-2 毒素重复性检测数据
Table 3 Repeatability testing results of T-2 toxin in sample

检测次数	1	2	3	4	5	6
T-2 毒素含量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	12.4	12.7	13.4	12.0	13.0	12.5

则平均值 $\bar{X} = 12.7 \mu\text{g}/\text{kg}$

根据贝塞尔公式可知其标准偏差为:

$$S_{\bar{X}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n(n-1)}} = 0.5002$$

由重复性引入的相对标准不确定度为:

$$u(f_1) = \frac{S_{\bar{X}}}{\sqrt{6} \times \bar{X}} = 0.0161$$

3.3.5 校准曲线拟合过程引入的不确定度

校准曲线中各点浓度值是将标准溶液加入空白基质样品中与未知样品同时处理和检测得到, 所以, 校准曲线拟合过程引入的不确定度还需考虑前处理操作过程引入的不确定度, 用于绘制标准曲线的标准浓度有 7 个, 根据 3.3.3 结果可知, 前处理操作过程引入的不确定度合成为:

$$7u^2(c) = 1.42 \times 10^{-3}$$

由实验得到的校准曲线方程为: $Y = -16785 + 10785X$, 相关系数 $r^2 = 0.9999$, 则有 $a = -16785$, $b = 10785$ 。

$$u_{rel}(\text{curve}) = \frac{S_A}{b\bar{X}} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(X - \bar{X})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

$$S_A = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [y_i - y_i']^2}{n-2}}$$

式中: X ——样品测量的平均值, $X = 25.316 \text{ ng}$;

p ——样品测量的次数, 日常检测中, $p = 2$;

表4 拟合曲线相关值
Table 4 Related values of fitted curve

校准点设定值(ng)	0	4	20	40	80	200	400
y_i	191	36012	208054	407487	812265	2136441	4305820
x_i	1.57	4.90	20.85	39.34	76.87	199.65	400.80
y_i'	-16785	26355	198915	414615	846015	2140215	4297215

n ——测量校准曲线浓度点, $n=7$;

\bar{x} —— 不同校准标准含量的平均值,

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} = 106.28 \text{ ng};$$

x_i —— 标准溶液中某一校准点的值, ng;

y_i —— 仪器各点的响应值;

y_i' ——拟合曲线计算的响应值。

拟合曲线的相关值见表4。

将上述各值代入公式, 得到: $S_A=18671.49$, $u_{rel}(\text{curve})=0.0136$ 。所以, 由定量校准标准溶液配制及曲线拟合引入的不确定度为:

$$u^2(f_2) = u^2(P) + 7u^2(c) + u_{rel}^2(\text{curve}) = 2.08 \times 10^{-3}$$

3.3.6 液质联用仪器校准引入的不确定度

根据仪器校准证书给出的定量允差 $u=5\%$, 按矩形分布考虑, 则仪器校准引入的相对不确定度为:

$$u(f_3) = \frac{0.05}{\sqrt{3}} = 0.0289$$

3.4 标准不确定度的合成与扩展

表5中列出了不确定度各分量及其相对不确定度的平方值。综合各分量, 可得到合成标准不确定度为:

$$\frac{u(X)}{X} = \sqrt{u^2(f_1) + u^2(f_2) + u^2(f_3) + u^2(m) + u^2(c)} = 0.0582$$

$$u(X) = 0.0582 \times 12.7 = 0.739$$

扩展不确定度 U 取置信概率为 95%, 包含因子 $k=2$, 则南美白对虾中 T-2 毒素的扩展不确定度为:

$$U = k \times u(X) = 1.5 \mu\text{g/kg}$$

表5 主要不确定度分量及其平方值
Table 5 Major components and square values of relative uncertainty

不确定度来源	符号	相对不确定度的平方值
样品称样	m	8.35×10^{-6}
样品前处理	c	2.03×10^{-4}
定量标准	f_2	2.08×10^{-3}
重复性	f_1	2.59×10^{-4}
仪器校准	f_3	8.35×10^{-4}

3.5 T-2 毒素测量结果及不确定度报告

试样中 T-2 毒素的测量结果为: $X=(12.7 \pm 1.5) \mu\text{g/kg}$, $k=2$ 。

4 讨论

由表5可知, 本方法不确定度来源中相对贡献最大的为定量标准引入的不确定度, 占相对不确定度分量总和的 42.3%, 由于标准溶液定量校准过程涉及标准溶液的配制、样品处理及曲线拟合, 其中, 样品前处理过程体积引入的不确定度又是三者中贡献最大的, 占比为 51.6%, 所以, 无论是未知样品还是用于曲线拟合的加标样品的处理, 分析人员在实验前处理操作过程中移液器的选用、环境温度的控制和相应操作的规范上都应该相应谨慎, 以确保检测结果更接近真实值。本方法中校准曲线的绘制采用空白基质匹配法, 即标准溶液加入到空白基质中与未知样品同时处理检测, 用其检测结果拟合曲线校正未知样品中目标物含量。这一方法的应用可不用另行考虑回收率引入的不确定度, 因校准曲线的绘制过程已将回收率考虑在内, 样品中毒素的含量计算也可省去回收率影响因子的校正。此方法可使日常检测中外标定量法更接近真实值。本方法的不确定度评估亦可为采用空白基质匹配法的现行相关检测方法^[15,16]出具不确定度数据提供参考。

参考文献

- [1] Mateo JJ, Mateo R, Hinojo MJ, et al. Liquid chromatographic determination of toxigenic secondary metabolites produced by *Fusarium* strains [J]. J Chromatogr A, 2002, 955(2): 245-256.
- [2] 吴庆华. T-2 毒素的代谢和毒作用信号转导研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.
Wu QH. Metabolism and signal transduction pathway of T-2 toxin [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2013.
- [3] Agrawal M, Bhaskar ASB, Rao PVL. Involvement of mitogen-activated protein kinase pathway in T-2 toxin-induced cell cycle alteration and apoptosis in human neuroblastoma cells [J]. Mol Neurobiol, 2014, 51(3): 1379-1394.
- [4] Gutleb AC, Morrison E, Albertina JM. Cytotoxicity assays for mycotoxins produced by *Fusarium* strains: a review [J]. Environ Toxicol Pharm, 2002, 11: 309-320.
- [5] Guan S, He J, Young C, et al. Transformation of trichothecene mycotoxins by

- microorganisms from fish digesta [J]. *Aquaculture*, 2009, 290: 290–295.
- [6] CNAS-GL06 化学分析中不确定度的评估指南[S].
CNAS-GL06 Guidance on evaluating the uncertainty in chemical analysis [S].
- [7] 吴吉, 吴国兰, 申屠建中. 在线固相萃取 LC-MS/MS 法测定人全血中依维莫司浓度的不确定度评定[J]. *药物分析杂志*, 2016, 36(2): 226–233.
Wu J, Wu GL, Shentu JZ. Evaluation of uncertainty for the everolimus determination in human blood by online solid-phase extraction LC-MS/MS [J]. *J Pharm Anal*, 2016, 36(2): 226–233.
- [8] 杨秀梅, 刘养仲, 孙德刚, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定兔肉中氟苯尼考含量的不确定度评估[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(2): 612–616.
Yang XM, Liu YZ, Sun DG, *et al.* Assessment of the uncertainty in determination of florfenicol in rabbit meat by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(2): 612–616.
- [9] 兴丽, 王梅, 赵凤敏, 等. ICP-MS 两种模式下测定亚麻籽中微量元素及其不确定度评定[J]. *光谱学与光谱分析*, 2014, 34(1): 226–230.
Xing L, Wang M, Zhao FM, *et al.* Determination and uncertainty evaluation of microelements in flaxseed by using ICP-MS under two modes [J]. *Spectrosc Spect Anal*, 2014, 34(1): 226–230.
- [10] JJG 1135-2005 化学分析测量不确定度评定[S].
JJG 1135-2005 Evaluation of uncertainty in chemical analysis measurement [S].
- [11] JJG 196-2006 常用玻璃量器[S].
JJG 196-2006 Working glass container [S].
- [12] 敬思群, 刘长勇, 刘军. HPLC 测定鸡肉中呋喃唑酮的不确定度分析[J]. *食品科学*, 2007, 28(12): 393–396.
Jing SQ, Liu CY, Liu J. Analysis of uncertainty in determination of furazolidone in chickens by HPLC [J]. *Food Sci*, 2007, 28(12): 393–396.
- [13] 王季宝, 凌云, 刘绿叶, 等. 水产品金黄色葡萄球菌检验结果不确定度的评定[J]. *食品科学*, 2010, 31(10): 212–215.
Wang LB, Ling Y, Liu LY, *et al.* Evaluation of measurement uncertainty in the enumeration of *Staphylococcus aureus* in aquatic products [J]. *Food Sci*, 2010, 31(10): 212–215.
- [14] 张素娟. 气相色谱法测定白酒中乙酸乙酯含量的不确定度分析[J]. *食品科学*, 2010, 31(2): 151–153.
Zhang SJ. Uncertainty analysis of GC determination of ethyl acetate in distilled spirit [J]. *Food Sci*, 2010, 31(2): 151–153.
- [15] GB/T 5009.116-2003 畜、禽肉中土霉素、四环素、金霉素残留量的测定(高效液相色谱法)[S].
GB/T 5009.116-2003 Determination of oxytetracycline, tetracycline and chlortetracycline residues in meat (HPLC) [S].
- [16] GB/T 20752-2006 猪肉、牛肉、鸡肉、猪肝和水产品中硝基呋喃类代谢物残留量的测定液相色谱-串联质谱法[S].
GB/T 20752-2006 Method for the determination residues of the metabolites of nitrofurans in pork, beef, chicken porcine liver and aquatic products-LC-MS-MS method [S].

(责任编辑: 金延秋)

作者简介



施琦, 硕士, 主要研究方向为水产品质量与安全。

E-mail: shiqi616@126.com



王雅玲, 教授, 硕士生导师, 主要研究方向为水产品质量与安全。

E-mail: 65466768@qq.com



孙力军, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为水产品质量与安全。

E-mail: dfsun01@126.com